Le métabolisme de l'azote dans le sol

J. H. QUASTEL

Etant donnée l'assurance avec laquelle certains traités élémentaires parlent du « cycle de l'azote » on ne peut en vouloir aux étudiants de croire que le problème à été résolu une fois pour toutes. Mais le Professeur Quastel voit la situation tout différemment. Il montre que l'étude du métabolisme de l'azote dans le sol est encore dans son enfance et que, si l'on a pu élucider quelques-uns des faits essentiels, il y a cependant encore de nombreux phénomènes très intéressants — mais très compliqués — qui demandent à être étudiés à fond.

Le métabolisme de l'azote dans le sol comporte la longue série de transformations chimiques que subit la molécule d'azote, par une suite de processus biologiques ayant lieu dans le sol, en partant de sa fixation initiale jusqu'à sa libération finale dans l'atmosphère. Les principaux processus comportant ce cycle sont les suivants:

1. *Transformation de l'azote atmosphérique par les micro-organismes du sol en substances pouvant servir d'aliments aux microbes et aux plantes.* Ce processus est généralement appelé fixation biologique et est dû principalement à deux séries d'organismes, l'une étant constituée par la bactérie de la nodosité de la racine, qui vit en symbiose avec certaines légumineuses, l'autre par des organismes vivant dans le sol, indépendamment des plantes.

2. *Transformation dans le sol de composés azotés résultant de l'autolyse de diverses formes de substances biologiques, d'excréments d'animaux, ou de produits du métabolisme d'organismes vivants du sol, en ions ammonium.* Ces phénomènes sont produits par une grande variété de micro-organismes du sol qui, en se développant par voie aérobie ou anaérobie sur des composés organiques azotés, produisent au cours de leur métabolisme des ions ammonium; ou bien encore ils peuvent être produits par l'action d'enzymes hydrolysantes ou oxydantes présentes dans les micro-organismes du sol, qu'ils prolifèrent ou non.

3. *La conversion de cations ammonium en anions nitrites ou nitrates.* On désigne généralement ce processus sous le nom de nitrification du sol et il est dû en grande partie à deux groupes d'organismes, *Nitrosomonas* (ainsi que *Nitrosocystis* et *Nitrosospira*) qui donnent des nitrates à partir d'ions ammonium et *Nitrobacter* (ainsi que *Nitrocystis* et *Bactoderma*) qui transforment les ions nitrites en ions nitrates.

4. *Réduction des nitrates en nitrites et, finalement, en ions ammonium ou en azote libre.* La réduction des nitrates en nitrites et en ammoniaque est l'œuvre de divers micro-organismes et ce processus a été très étudié. Le processus biologique de production d'azote ou de formation d'oxydes d'azote à partir de nitrates ou de nitrites n'est pas tout-à-fait aussi bien compris. Les nitrates[1] constituent la principale source d'azote pour la vie des plantes croissant dans le sol et, de ce fait, pour toute vie animale. L'azote retourne au sol en grande partie sous forme de combinaisons organiques qui subissent les transformations mentionnées dans le processus 2. L'azote n'est pas perdu pour l'atmosphère dans ses transformations dans la plante intacte ou l'animal.

L'azote combiné total à la surface de la terre augmenterait par l'action des processus catalytiques biologiques du sol qui fixent l'azote atmosphérique si ce n'était qu'il existe des mécanismes qui produisent le dégagement de l'azote libre à partir de composés tels que les nitrites ou l'ammoniaque. Les processus qui conduisent à la réduction de nitrates (ou nitrites) en libérant l'azote gazeux (ou ses oxydes) est généralement appelé dénitrification.

FIXATION BIOLOGIQUE DE L'AZOTE

Boussingault effectua en 1837 les premières expériences quantitatives, au laboratoire et en pleine terre, montrant que la fixation de l'azote atmosphérique prend place au cours du développement de légumineuses telles que le trèfle, le pois, la luzerne, tandis que rien ne se produit dans le cas du blé ou de l'avoine. Liebig (1843, 1852) combattait l'idée que l'azote atmosphérique libre est assimilé par la plante. Il estimait que l'action des légumineuses était due à la large surface qu'offrent leurs feuilles pour l'absorption

[1] Toutefois l'azote ammoniacal est assimilé par beaucoup de plantes croissant dans des terrains qui ne favorisent pas la nitrification directe, comme par exemple certaines herbes ou certains arbres forestiers.

de l'ammoniaque atmosphérique. Cependant Ville montra en 1845 que l'ammoniaque est en quantité insuffisante dans l'atmosphère pour être responsable de la plus grande quantité d'azote fixée au cours du développement des légumineuses. La question demeura confuse jusqu'aux travaux de Lawes, Gilbert et Pugh, à la Station Expérimentale de Rothamsted. Ils entreprirent en 1851 des recherches destinées à expliquer les résultats d'expériences de pleine terre effectuées sur une période de seize années. Ces résultats avaient montré que les terres semées en non-légumineuses, sans addition d'engrais, ne donnaient que de faibles rendements, tandis que les terrains mis en légumineuses donnaient, même en l'absence d'engrais, des rendements élevés. De plus si, en rotation, une non-légumineuse suivait une légumineuse, le rendement était aussi élevé que si le champ était resté en jachère pendant une année. Ceci se produisait en dépit du fait qu'une forte quantité d'azote avait été enlevée par la précédente récolte de légumineuses.

La conclusion logique semblait être que le développement en pleine terre des légumineuses est accompagné d'une fixation d'azote atmosphérique. Des expériences en pots conduites avec soin par Lawes et ses collègues en 1861, montrèrent qu'aucune fixation d'azote moléculaire ne se produisait au cours de la croissance de légumineuses ou de céréales. Les résultats précis obtenus en pleine terre à Rothamsted restaient encore inexpliqués. En 1866 les travaux classiques de Hellriegel et Wilfarth jetèrent un jour nouveau sur la question. Ils montrèrent que certaines bactéries du sol infectent les légumineuses et produisent des nodosités qui permettent à la plante d'utiliser l'azote atmosphérique; ces bactéries sont sans action sur les céréales. Les légumineuses poussant dans du sable stérile en présence d'azote combiné, tel que des nitrates, croissent bien sans fixation d'azote atmosphérique. Celles que l'on cultive dans du sable stérile, en présence d'un extrait de terreau riche forment des nodosités et fixent de l'azote atmosphérique. Les céréales dépendent entièrement d'un composé azoté comme source d'azote pour leur croissance.

Il devint évident de ce fait que la fixation biologique de l'azote telle qu'on l'observe dans les plantes est due en partie, sinon en totalité, à une action bactériologique. On désigne les organismes sous le nom de *Rhizobia*. La première culture pure de ces bactéries fut préparée par Beijerinck.

FIXATION DE L'AZOTE PAR LE *RHIZOBIUM*

On sait encore peu de chose sur le mécanisme de fixation de l'azote par la bactérie des nodosités en association avec la plante. Seules, ni la plante ni le *Rhizobium* ne peuvent fixer l'azote, sauf dans des conditions très spéciales qui font actuellement l'objet de recherches. Il est évident qu'il doit y avoir certaines échanges chimiques entre la plante et la bactérie, *in vivo*.

Lorsqu'une graine de légumineuse germe dans un sol contenant des *Rhizobia* ceux-ci sont attirés vers la région où se développent les poils des racines. La présence de *Rhizobia* dans le voisinage immédiat des poils radiculaires a pour effet la production d'une déformation des poils en « boucle ». Cette déformation est due à l'action de substances chimiques spécifiques car on a trouvé que des extraits de bactérie agissant en l'absence de *Rhizobia* sont aussi actifs que les organismes eux-mêmes. Biologiquement l'action n'est pas spécifique et peut être causée par des extraits bactériens autres que ceux de *Rhizobia*. A l'endroit de la déformation du poil les *Rhizobia* envahissent le tissu de la racine et prolifèrent à l'intérieur du poil en forme de filament dirigé vers les cellules de la racine. Les bactéries migratrices sont enrobées dans une gomme et un filament d'infection est formé. Les cellules de l'hôte produisent une gaine autour des bactéries enrobées. Il se produit une stimulation de la division cellulaire et les nouveaux tissus formés sont envahis par de nouvelles bactéries. C'est de cette manière que se forme une nodosité. Thimann, en 1936, arriva à la conclusion que les *Rhizobia* produisent un composé spécifique dans le poil radiculaire et que celui-ci est probablement de l'acide indolacétique, cause de la stimulation locale des cellules de l'hôte. Les bactéries et les cellules de l'hôte cessent de se multiplier lorsque la nodosité vieillit et finalement le tissu devient nécrotique. La nodosité ramollit, l'intérieur est digéré puis, finalement, se détache. Les *Rhizobia* retournent au sol.

La présence d'azote combiné (e.g. nitrates ou sels d'ammonium) dans le sol dans lequel se développe l'hôte semble rendre la plante résistante à l'attaque des *Rhizobia*. Il en résulte qu'en présence d'un excès d'azote combiné une plante fixe peu ou pas d'azote atmosphérique.

La récente découverte par Kubo (1939) de la présence d'hémoglobine, sous forme de pigment rouge, dans les nodosités de légumineuses éclaire la question de l'association chimique entre les *Rhizobia* et leur hôte. Keilin et Wang (1945) ont

confirmé cette découverte et ont trouvé que le pigment des nodosités du soya est une hémoglobine possédant un spectre d'absorption caractéristique.

Bien que l'hémoglobine soit très répandue dans la nature on pensait qu'elle ne se trouvait de façon générale que chez les vertébrés. Cette opinion sera peut-être considérablement modifiée par la découverte de sa présence dans *Paramoecium*, par Sato et Tamiya (1937), et dans les nodosités de racines des légumineuses. Ni les cellules de la plante, ni les *Rhizobia* ne font, séparément, la synthèse de l'hémoglobine. « Ce n'est que lorsque les cellules de la racine sont envahies par un micro-organisme symbiotique spécifique et commencent à proliférer qu'il y a formation d'hémoglobine. Le *Rhizobium* ne provoque pas seulement la croissance et la multiplication des cellules mais fournit aussi à ces cellules en voie de prolifération, directement ou indirectement, un facteur nécessaire à la synthèse de l'hémoglobine » (Keilin et Wang, 1945). L'hémoglobine peut n'agir qu'indirectement en produisant dans la nodosité les conditions optimales pour les processus d'oxydation avec lesquels la fixation d'azote peut être associée. On sait que l'oxyde de carbone empêche la fixation symbiotique de l'azote aux basses pressions auxquelles il réagit avec l'hémoglobine. Virtanen et Laine (1946) ont trouvé également de la méthémoglobine dans les nodosités. D'après les résultats d'expériences sur l'excrétion de produits azotés par les légumineuses ils ont émis une hypothèse rapportant la fixation d'azote à des changements de valence de l'hémoglobine, et exprimée par les équations qui suivent. (Ils stipulent que l'hydroxylamine mentionnée dans la première équation n'apparaît pas nécessairement à partir de l'azote moléculaire mais seulement, peut-être, après un certain nombre de stades intermédiaires).

$$N_2 + \text{méthémoglobine } (Fe''') \rightleftharpoons NH_2OH + \text{hémoglobine } (Fe'') \quad \ldots\ldots\ldots\ldots (1)$$

$$\underset{\text{(Hydroxylamine)}}{NH_2OH} + \underset{\text{(Acide oxalacétique)}}{COOH.CO.CH_2.COOH} \rightleftharpoons \underset{\text{(Oxime oxalacétique)}}{COOH.C(NOH).CH_2.COOH} + H_2O \quad \ldots\ldots (2)$$

$$COOH.C(NOH).CH_2.COOH \xrightarrow{\text{Réduction}} \underset{\text{(Acide aspartique)}}{COOH.CH(NH_2).CH_2.COOH} \quad \ldots\ldots\ldots (3)$$

Cependant Keilin et Smith (1947) nièrent la présence de méthémoglobine comme constituant normal de la nodosité de la racine et ne partagent pas l'opinion que la fixation d'azote entraîne des changements de valence pour l'hémoglobine.

Les faits observés par Virtanen et Laine et qui semblent corroborer ces vues sont les suivants:

1. Les cultures de légumineuses en sable stérile contenant la variété désirée de *Rhizobia* excrètent de l'acide *l*-aspartique et de la β-alamine, le second corps dérivant probablement du premier par décarboxylation. L'excrétion ne se produit que lorsqu'il y a fixation d'azote.

2. Dans les mêmes conditions on constate également l'excrétion d'une faible quantité d'oxime oxalacétique.

3. Il y a formation d'oxalacétate libre dans le pois au cours de la fixation active d'azote.

4. Des nodosités excisées, soit intactes, soit écrasées, peuvent fixer l'azote atmosphérique en présence d'oxalacétate, mais pas en son absence.

FIXATION NON-SYMBIOTIQUE DE L'AZOTE

En 1893 Winogradsky trouva qu'un organisme anaérobie du sol, le *Clostridium pastorianum*, fixe l'azote libre lorsqu'on lui fournit du glucose, la quantité d'azote fixée étant proportionnelle à la quantité de glucose décomposé. La fixation d'azote est empêchée par la présence de sels ammoniacaux mais cette action peut être déjouée par une augmentation de la concentration en glucose. Le rapport de l'hydrate de carbone à l'azote combiné détermine ainsi la vitesse de fixation de l'azote. Une caractéristique intéressante de cet organisme est qu'il perd son pouvoir de fixation de l'azote par culture prolongée sur un milieu artificiel, mais ce pouvoir est restauré si l'organisme est remis dans le sol.

En 1901 Beijerinck isola du sol et de la boue deux organismes aérobies capables de fixer l'azote atmosphérique. Ce sont l'*Azotobacter chroöcoccum* (la variété la plus répandue) et l'*Azotobacter agilis* (la variété douée de motilité). A l'encontre du *Clostridium*, l'*Azotobacter* ne perd pas son pouvoir de fixer l'azote par culture prolongée sur milieux synthétiques au laboratoire. Un point intéressant sur l'*Azotobacter* est que son métabolisme exige la présence de traces de molybdène ou de vanadium. L'action du molybdène sur la croissance de l'organisme peut être observée pour une concentration de 1–3 parties pour 10^{12}. Burk et Horner ont trouvé que le molybdène est non seulement indispensable à l'assimilation de l'azote libre mais qu'il est également nécessaire à l'utilisation par cet organisme de l'azote combiné

(sous forme d'asparagine ou de nitrate). Le tungstène peut, dans une certaine mesure, remplacer le molybdène. L'*Azotobacter* et le *Clostridium* semblent être les fixateurs d'azote non-symbiotiques les plus répandus du sol; on les trouve également dans l'eau douce et l'eau salée, souvent associés à des algues.

Dans les terrains arides relativement pauvres en matières organiques la proportion de micro-organismes dans celles-ci dépasse le chiffre habituel (environ 5%) et ceci à cause du développement extraordinaire de l'*Azotobacter* dans les conditions d'alcalinité ou de salinité de ces terrains.

Dans le cas du *Clostridium* et dans celui de l'*Azotobacter* la présence d'azote combiné utilisable diminue la vitesse de fixation de l'azote; l'azote de l'ammonium ou des nitrates est actif dans ce sens. L'arrêt de la fixation par l'*Azotobacter* est total en présence d'azote ammoniacal à la concentration de 0.5 mg de N par 100 ml. La présence de nitrates ou de sels d'ammonium dans le sol rend aussi les légumineuses résistantes à l'attaque des *Rhizobia* en diminuant le nombre des poils radiculaires et des nodosités formées. Ceci a pour résultat que lorsqu'il y a dans le sol un excès d'azote combiné il se produit peu ou pas de fixation d'azote atmosphérique. La présence d'hydrates de carbone tend à restreindre l'effet de l'azote combiné.

FIXATION DE L'AZOTE PAR *L'AZOTOBACTER*

Kostytschew et ses collaborateurs (1925) arrivèrent à conclure que le phénomène initial dans la fixation d'azote par les cultures d'*Azotobacter* est la formation d'ammoniaque, et Winogradsky découvrit en 1930 qu'il y a formation d'ammoniaque lorsque l'*Azotobacter* prolifère sur un gel de silice en l'absence d'azote combiné. Burk et Horner (1936) nièrent que la formation d'ammoniaque soit le premier produit de la fixation d'azote. Ils estimaient que l'ammoniaque prenait naissance de façon secondaire par la désamination par oxydation de la matière organique de la cellule. Winogradsky montra, en 1938, que les cultures pures d'*Azotobacter* ne peuvent décomposer la matière organique en ammoniaque et en concluait que l'apparition d'ammoniaque dans les cultures pures de cet organisme indiquaient qu'il y avait réduction directe d'azote moléculaire. Burk et Horner (1939), cependant, maintiennent que l'excrétion d'ammoniaque par l'*Azotobacter* est en grande partie indépendante de la forme d'azote présente (libre ou combinée).

Une nouvelle technique a rendu possible l'étude de la fixation d'azote par l'*Azotobacter* d'une façon plus précise quantitativement qu'en aucun cas observé auparavant et Burk et ses collaborateurs (1930, 1934) ont trouvé de cette façon (1) que la respiration de l'*Azotobacter* qui est très élevée, est maximum à des pressions d'oxygène inférieures à celles de l'air; (2) que la présence d'azote combiné utilisable (ammoniaque ou nitrate) fait décroître la vitesse de fixation d'azote libre; (3) que les ions calcium (ou strontium) sont nécessaires à la fixation et que les substances qui immobilisent le calcium en formant avec lui des sels insolubles empêchent la fixation d'azote; et (4) que le molybdène (ou, à un degré moindre, le vanadium) a une action nettement favorisante sur le développement de l'*Azotobacter* dans l'azote libre.

Burk et ses collaborateurs ont émis l'hypothèse suivante pour expliquer la fixation de l'azote par l'*Azotobacter* par un mécanisme enzymatique:

$$N_2 + E \rightleftharpoons N_2E \text{ (rapide)}$$
$$N_2E \longrightarrow E + P \text{ (lent)}$$

E se rapporte à une enzyme spécifique (la *nitrogénase*) qui se combine de façon réversible avec la molécule d'azote pour former un complexe enzyme-substratum N_2E. Celui-ci se scinde de façon non-réversible en E et en produits P qui correspondent à une augmentation en cellules d'*Azotobacter*. L'ensemble du système a reçu le nom d'*Azotase*.

FORMATION D'AMMONIAQUE

On sait que les composés azotés des résidus végétaux sont décomposés dans le sol pour former de l'ammoniaque tant que le rapport du carbone à l'azote dans la matière organique ne dépasse pas sensiblement 10.

Les protéines et autres composés azotés sont décomposés dans le sol par une variété d'organismes et le produit nitré ultime est l'ammoniaque. La formation d'ammoniaque dépend de la vitesse de prolifération des organismes du sol qui exigent pour leurs propres opérations de synthèse de l'azote ammoniacal. Si l'on est en présence d'une quantité largement suffisante de matières non-azotées utilisables, telles que des hydrates de carbone, on ne verra pas apparaître d'azote ammoniacal qui sera entièrement utilisé à la formation de nouvelles bactéries ou champignons. On peut représenter de la façon suivante la libération de l'azote sous forme d'ammoniaque dans la décomposition des protéines:

$$\left\{\begin{array}{c}\text{Azote de la}\\ \text{matière}\\ \text{décomposée}\end{array}\right\} - \left\{\begin{array}{c}\text{Azote utilisé}\\ \text{synthétiquement par}\\ \text{les micro-organismes}\\ \text{pour leur croissance}\end{array} + \begin{array}{c}\text{Azote}\\ \text{non-assimilable}\end{array}\right\} = \left\{\begin{array}{c}\text{Azote}\\ \text{ammoniacal}\end{array}\right\}$$

Les protéines qui sont riches en azote donnent une quantité relativement élevée d'ammoniaque. Divers organismes prennent part à la formation de l'ammoniaque par des mécanismes qui varient avec chacun. Si les protéines sont décomposées en amino-acides ceux-ci peuvent fournir de l'ammoniaque par l'action d'oxydases de micro-organismes en repos ou en voie de prolifération. Mais on connaît peu les modes de décomposition des matières organiques azotées dans le sol.

NITRIFICATION

Schlossing et Muntz (1877, 1874) montrèrent d'après une étude de la purification d'eaux résiduaires par des filtres de terre que le processus métabolique par lequel l'ammoniaque et les matières organiques sont finalement transformées en nitrate dans le sol, était un processus biologique. Warington montra que la nitrification du sol était empêchée par l'emploi de chloroforme et de sulfure de carbone et il établit, ainsi que les Frankland (1890), le fait que la nitrification se produit en deux stades, l'ammoniaque étant oxydée en nitrite puis le nitrite en nitrate. Winogradsky (1890, 1891) réussit à isoler en culture pure les organismes responsables, fait très important dans l'étude des organismes autotrophes. Il montra que les matières organiques étaient inutiles, et, en fait, nuisibles, à leur développement. Warington mit clairement en évidence que le sort final de l'azote du sol est la formation de nitrates. Les progrès de l'étude de la nitrification du sol ont été extraordinairement lents depuis la fin du siècle dernier. Stevens et Withers (1910) ont démontré que la nitrification du sol diffère au moins en un point très important de la nitrification en milieu artificiel (gel de silice) tel que celui employé d'abord par Winogradsky. Ils mirent en évidence que la présence de matières organiques gêne bien moins la nitrification dans le sol que dans le milieu artificiel employé au laboratoire. Meyerhof (1916, 1917) et d'autres encore, ont fait d'importantes recherches sur le comportement d'organismes nitrificateurs en culture pure sur milieu artificiel, mais les rapports généraux entre les résultats obtenus dans ces expériences et ceux obtenus dans le sol ne sont pas très clairs. Albrecht et McCalla (1937) ont résumé la situation en ces termes:

> On a étudié très spécifiquement les conditions qui régissent la nitrification en solution aqueuse. Pour l'étude de ce processus dans le sol on a obtenu des conditions moins bien définies et des méthodes moins recherchées. La complexité d'un sol composé d'un mélange de sable, de limon et d'argile, ne permet pas une précision suffisante pour englober les divers aspects chimiques d'un processus aussi délicat que celui de la nitrification.

Lees et l'auteur du présent article (1944, 1946) ont effectué des expériences sur le mode de transformation dans le sol de composés azotés en nitrates en employant une technique nouvelle permettant d'étudier les phases du métabolisme avec une précision supérieure à celle obtenue jusqu'alors. En résumé, on a tenté d'étudier le sol comme s'il était un tissu vivant. On met en évidence les changements amenés par le sol *dans son intégralité*, dans des conditions expérimentales définies, et l'on a soin de ne pas déranger le sol lui-même pendant toute la durée de l'expérience. On a reconnu le principe que « les variations biologiques qui prennent place dans le sol résultent directement du stimulus chimique initial appliqué au sol et font partie du changement chimique général au même degré que les changements métaboliques eux-mêmes, plus aisément identifiables » (Lees et Quastel, 1946).

On emploie, pour cette nouvelle technique, un appareil grâce auquel on fait traverser une colonne de terre (sous forme de miettes tamisées et séchées à l'air), par un courant d'un liquide oxygéné ou aéré. On fait ensuite passer cette solution à travers l'échantillon de terre pendant une période de temps indéfinie. Le procédé est continu et peut être maintenu indéfiniment. La substance dont on étudie le métabolisme est dissoute dans le liquide dont on asperge la terre ou mélangée à la colonne de terre. L'appareil présente de nombreux avantages pour l'étude biochimique du sol et grâce à lui divers aspects du métabolisme sont d'une étude aussi facile dans la terre que dans les tissus végétaux ou animaux. La terre, en effet, est considérée comme un ensemble biologique, toutes précautions étant prises pour assurer la constance des conditions extérieures dans lesquelles la terre opère ses fonctions métaboliques.

Les expériences effectuées à l'aide de cet appareil ont confirmé toutes les observations

antérieures sur la nature biologique de la nitrification du sol. De nouveaux essais ont permis d'arriver à la conclusion que la vitesse de nitrification d'une quantité donnée de sulfate d'ammonium est fonction du degré d'adsorption des ions ammonium dans le sol ou de leur combinaison sous forme de complexes échangeurs de base du sol. Plus il y a adsorption, plus la nitrification est rapide. Ceci a été démontré par la comparaison des vitesses de nitrification de sols ayant adsorbé des quantités différentes d'ammonium. La seule explication de ces résultats qui puisse se soutenir est que les ions ammonium adsorbés sont ceux qui sont le plus facilement nitrifiés par les organismes du sol. Ceci permit de prédire que l'addition de sol stérile à un sol nitrifiant accroîtrait sa vitesse de nitrification proportionnellement à la capacité d'échange de base du sol ajouté. Cette prédiction s'est trouvée vérifiée.

L'explication de ces résultats est que les bactéries nitrifiantes se développent à la surface des miettes de terre, aux endroits où l'ammonium est retenu sous forme de combinaison échangeuse de base, et prolifèrent aux dépens des cations ammonium adsorbés. La vitesse de prolifération devient par conséquent proportionnelle à la surface de sol sur laquelle les ions ammonium sont adsorbés ou combinés et devient ainsi fonction de la capacité d'échange de base du sol.

Le fait que la prolifération des organismes nitrifiants prenne place précisément aux points de la surface du sol sur laquelle les ions ammonium sont adsorbés mène à la conclusion que, lorsque tous ces emplacements ont été occupés, il ne peut y avoir de nouveau développement des organismes, sauf pour le remplacement des cellules mortes et décomposées. Le nombre de cellules nitrifiantes vivantes qui passent dans la solution de sol est remarquablement faible, ce qui mène à la conception d'un sol saturé de bactéries, c'est-à-dire d'un sol où l'aire de prolifération est limitée et ne peut s'étendre par suite de l'occupation de tous les sites de prolifération disponibles. On peut employer utilement une telle terre saturée de bactéries pour trouver si une substance donnée est décomposée par les cellules qui saturent le sol. Si, par exemple, un composé organique azoté est décomposé et oxydé en nitrate par les cellules nitrifiantes, la marche de la formation du nitrate dans un sol saturé de telles cellules devait être linéaire et ne présenterait pas de période de retard initial. Si l'on constate la présence d'un retard initial on en déduit que le composé en question demande à être attaqué par des organismes différents avant que la nitrification puisse avoir lieu. On a démontré de cette manière que les amines aliphatiques nitrifiées dans le sol exigent d'autres organismes nitrifiants pour effectuer une première décomposition.

Une nouvelle observation faite récemment a montré que tandis que l'hydroxylamine à faible concentration est toxique vis-à-vis des organismes nitrifiants, et ne semble pas être nitrifiée, la présence de pyruvate de sodium assure une nitrification rapide de l'amine. L'oxyme pyruvique subit également une nitrification rapide dans un sol enrichi par des organismes nitrifiants. D'après l'hypothèse de Virtanen et Laine, que l'oxime oxalacétique entre en jeu dans la fixation de l'azote par symbiose, le fait que l'oxime pyruvique subisse une nitrification rapide peut éclairer le mécanisme par lequel l'ammoniaque est oxydée en nitrate dans les cellules nitrifiantes.

Un autre phénomène observable grâce à l'appareil de perfusion, est l'effet bactériostatique remarquable du chlorate de potassium sur les organismes qui transforment les nitrites en nitrates. De faibles concentrations de chlorates, $M/10^6$ par exemple, ont le pouvoir d'empêcher le développement des *Nitrobacter*, tandis que celui des *Nitrosomonas* n'est pas affecté. Il en résulte que lorsque des substances azotées sont nitrifiées dans le sol, en présence de faibles quantités de chlorates, on constate une accumulation des nitrites, mais pas des nitrates. Le chlorate de potassium n'affecte en aucune façon l'oxydation des nitrites en nitrates par les bactéries, cette conversion se faisant à allure constante dans une terre enrichie en bactéries, sans aucun effet du chlorate à des concentrations où il empêche la prolifération des organismes en jeu. La bactériostase du chlorate peut être neutralisée par la présence de nitrates qui semblent avoir une action spécifique. On ne peut encore fournir aucune explication de ce phénomène.

LIBÉRATION D'AZOTE LIBRE

Les conditions dans lesquelles ce processus prend place ne sont pas très bien comprises mais il semble généralement admis que la perte d'azote libre par un sol soit largement favorisée par de mauvaises conditions de drainage et par le manque d'aération. Elle peut atteindre un chiffre très élevé dans des terrains cultivés bien préparés et probablement aussi dans des terres encore vierges.